

Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan Aktinomiset sebagai Agens Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pemacu Pertumbuhan Padi

Compatibility of *Bacillus* spp. and Actinomycetes as Biocontrol Agent for *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* and Growth Promoter for Rice

Candra Putra, Giyanto*

Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

ABSTRAK

Penyakit hawar daun bakteri merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Bakteri ini bersifat tular benih dan bertahan dalam waktu yang lama. Beberapa mikroba diketahui berpotensi sebagai agens hayati patogen ini, seperti *Bacillus* spp. dan aktinomiset. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat aktinomiset sebagai agens hayati *X. oryzae* pv. *oryzae* dan kompatibel terhadap *Bacillus* galur B12 yang dapat diaplikasikan pada benih padi. Aktinomiset yang diisolasi dari tanah, diseleksi dengan metode pembiakan ganda (*dual culture*) pada medium agar-agar dan medium tumbuh berupa tanah dan pupuk kandang (1:1 b/b). Enam belas aktinomiset yang berhasil diisolasi, 3 isolat memiliki sifat antagonis terhadap patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* dan kompatibel terhadap *Bacillus* galur B12, yaitu APS 7, APS 9, dan APS 12. *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset diaplikasikan pada benih padi varietas Ciherang dengan metode pelapisan benih dengan bahan pembawa ialah tepung arang sekam. Perlakuan tunggal aktinomiset APS 9 dapat menekan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* (88.89%) dan mampu memacu pertumbuhan tajuk tanaman sebesar 36.13%. Persentase kemunculan bibit tertinggi diperoleh berturut-turut pada perlakuan kombinasi *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset APS 7 (83.33%), dan APS 9 (79.0%) yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol (56.67%). Aplikasi *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset pada benih padi dapat menekan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* pada bibit padi serta meningkatkan pertumbuhan bibit padi.

Kata kunci: antagonis, hawar daun bakteri, pembiakan ganda, tular benih

ABSTRACT

Bacterial leaf blight caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is an important disease on rice. The bacteria is seed borne and survives for a long time in the seed. Some beneficial microbes, such as *Bacillus* spp. and actinomycetes has been reported as biocontrol agents for the disease. The objectives of the research was to select isolates of actinomycetes as biocontrol agents for *X. oryzae* pv. *oryzae* which is also compatible with *Bacillus* spp. by seed application. Actinomycetes isolated from soil was selected using dual culture method on agar medium and on growing medium composing of mixture of soil and manure (1:1 w/w). Three isolates out of

*Alamat penulis korespondensi: Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Kampus Darmaga, Jalan Kamper, Bogor
Tel: 0251-8629364, Faks: 0251-8629362, Surel: giyanto2@yahoo.com

16 isolated actinomycetes, i.e. APS 7, APS 9, and APS 12 showed antagonistic activities against *X. oryzae* pv. *oryzae* and compatible with *Bacillus* spp. Both *Bacillus* spp. and actinomycetes was applied to rice seed variety Ciherang using seed coating method in formulation containing rice husk. Actinomycetes treatment using APS 9 isolate was able to suppress population of *X. oryzae* pv. *oryzae* by (88.89%) and induce crown growth by 36.13%. The highest percentage of seedling emergence was obtained on combination treatment of B12 + APS 7 and single treatment of APS 9, i.e. 83.33% and 79%, respectively and significantly different with those of control treatment (56.67%). Application of *Bacillus* spp. and actinomycetes on rice seed was able to suppress population of *X. oryzae* pv. *oryzae* on rice seedling and induce rice growth.

Key words : antagonism, bacterial leaf blight, dual culture, seed borne

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman padi. Penyakit ini dapat merusak tanaman mulai dari fase bibit hingga generatif. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang dapat terbawa benih dan bertahan lama dalam benih selama fase dorman. Berbagai usaha sudah dilakukan untuk mengurangi kerugian yang ditimbulkan oleh penyakit ini, mulai dari penanaman varietas tahan hingga aplikasi bahan kimia sintetik yang bersifat toksik. Saat ini, perhatian mulai beralih ke sumber daya biologi dalam meningkatkan kesehatan dan ketahanan tanaman terhadap penyakit, antara lain melalui peran mikrob tanah yang bermanfaat.

Mikrob yang banyak diteliti ialah kelompok rizobakteria pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT). Salah satu bakteri RPPT ialah *Bacillus* spp. yang merupakan bakteri gram positif pendegradasi amilum yang umumnya ditemukan di tanah. Bakteri ini memiliki kemampuan membentuk struktur bertahan berupa endospora yang memungkinkan organisme ini tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem, seperti kadar air yang rendah (Dan *et al.* 2012). Selain *Bacillus* spp., aktinomiset juga berpotensi mengendalikan mikroorganisme penyebab penyakit, khususnya pada tanaman. Aktinomiset dikenal sebagai bakteri yang bersifat saprob dan sangat umum dijumpai di rizosfer hingga lapisan tanah dalam. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa aktinomiset merupakan kelompok mikrob yang menjanjikan untuk pengendalian biologi (Crawford *et al.* 1993)

dan diketahui dapat menghasilkan beragam antibiotik sebagai metabolit sekundernya (Sabaratnam dan Traquair 2001).

Bacillus spp. dan aktinomiset dapat menghasilkan spora yang bertahan pada kondisi ekstrem. Berdasarkan persamaan sifat ini, kedua mikrob berpotensi untuk diaplikasikan dalam suatu formulasi dengan bahan pembawa berupa tepung. Hal ini dilakukan agar dapat digunakan dengan mudah dalam pengendalian penyakit tanaman yang efektif dan aman bagi manusia serta lingkungan sekitarnya. Selain itu, mikrob dalam bahan pembawa berbentuk tepung memiliki umur simpan yang relatif lebih panjang karena mikrob berada dalam fase dorman, yaitu dalam bentuk spora yang dapat bertahan dalam waktu yang lebih lama dibandingkan dengan bentuk sel vegetatifnya.

Pembuatan suatu formulasi yang mengandung lebih dari satu jenis mikrob perlu diawali dengan kajian kompatibilitas antarmikrob tersebut. Hal ini diperlukan agar mikrob yang digunakan tidak saling meniadakan karena memiliki sifat antagonis satu sama lain. Penelitian ini bertujuan mendapatkan isolat aktinomiset sebagai agens hayati bagi patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri yang kompatibel dengan *Bacillus* spp. dan dapat diaplikasikan pada benih padi.

BAHAN DAN METODE

Peremajaan Isolat *Bacillus* spp.

Isolat *Bacillus* galur B12 dan *X. oryzae* pv. *oryzae* yang digunakan berasal dari koleksi Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Institut

Pertanian Bogor. Isolat tersebut berupa suspensi bakteri pada larutan gliserol 20% dan disimpan dalam keadaan beku pada suhu -20 °C. Isolat diremajakan pada medium *Tryptone Soy Agar* (TSA), selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 1–2 hari.

Isolasi dan Seleksi Aktinomiset sebagai Agens Hayati

Aktinomiset diisolasi dari sampel tanah yang berasal dari tanah lapisan atas. Tanah dikeringanginkan pada suhu ruang selama 7–10 hari. Sebanyak 10 g tanah sampel disuspensikan pada 100 mL air steril dan diinkubasi pada inkubator bergoyang selama 15 menit. Teknik pencawanan dilakukan terhadap suspensi ini pada konsentrasi 10^{-1} – 10^{-8} . Pencawanan dilakukan pada medium semi selektif *water-yeast extract agar* (WYE) dan *casamino acids-yeast extract-glucose-agar* (YCED) (Crawford *et al.* 1993). Koloni aktinomiset yang tumbuh dalam waktu 7–10 hari, dimurnikan dan dijadikan sebagai isolat murni.

Seleksi aktinomiset sebagai agens hayati dilakukan dengan metode biakan ganda. Sebanyak 1 lup biakan *X. oryzae* pv. *oryzae* berusia 24 jam diambil dari medium *yeast dextrose calcium carbonate agar* (YDCA) dan diinokulasikan ke erlenmeyer berisi 10 mL medium *Luria Broth* (LB) serta diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 18 jam. Pada waktu yang sama, sebanyak 1 lup spora aktinomiset, yang diperoleh dari biakan berusia 7 hari, diinokulasikan ke erlenmeyer berisi 10 mL medium LB dan diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm pada suhu ruang selama 18 jam. Setelah masa inkubasi, sebanyak 100 µL suspensi bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae* disebar pada medium TSA, kemudian dikeringanginkan selama 15 menit pada *laminar air flow cabinet*. Sebanyak 4 buah kertas saring berdiameter 0.5 cm diletakkan pada medium TSA yang telah disebari suspensi bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae*. Pada masing-masing kertas saring diteteskan 10 µL suspensi aktinomiset. Setelah itu medium diinkubasi pada suhu ruang selama beberapa hari. Pengamatan terhadap

aktivitas antagonisme dilakukan setiap hari. Aktivitas antagonisme ditunjukkan dengan pembentukan zona bening di sekitar kertas saring. Isolat aktinomiset yang menunjukkan sifat antagonis terhadap bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* kemudian dijadikan isolat stok yang akan digunakan pada uji lanjut.

Uji Kompatibilitas *Bacillus* Galur B12 dan Aktinomiset

Uji kompatibilitas *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset pada medium padat TSA dilakukan dengan metode biakan ganda. Sebanyak 10 µL suspensi biakan aktinomiset diteteskan pada kertas saring yang terdapat pada medium agar-agar yang telah disebari suspensi *Bacillus* galur B12. Aktinomiset yang bersifat antagonis terhadap *Bacillus* spp. akan membentuk zona bening dan tidak akan digunakan sebagai bahan uji.

Tahap selanjutnya ialah uji kompatibilitas antara *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset yang dilakukan pada medium tumbuh berupa tanah dan pupuk kandang (1:1 b/b) yang sudah disterilkan. Suspensi biakan *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset dengan kepadatan 10^5 cfu g⁻¹ diinokulasikan pada medium tumbuh. Setelah diinkubasi selama 2 minggu pada suhu ruang, kepadatan populasi *Bacillus* spp. dan aktinomiset dihitung.

Penyiapan Spora *Bacillus* Galur B12 dan Aktinomiset

Produksi spora diawali dengan peremajaan biakan *Bacillus* galur B12 sebanyak 1 lup biakan bakteri berumur 1 hari diinokulasikan ke dalam tabung reaksi berisi 5 mL medium cair LB dan diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 13 jam. Sebanyak 5 mL suspensi bakteri diinokulasi ke dalam erlenmeyer 1000 mL berisi 300 mL medium cair Dickinson dan diinkubasi pada inkubator bergoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 6 hari. Penghitungan spora *Bacillus* galur B12 dilakukan dengan memanaskan suspensi pada suhu 80 °C selama 15 menit dengan tujuan untuk mematikan sel vegetatif *Bacillus* spp., tetapi tidak mematikan sporanya. Setelah itu, dilakukan pengenceran berseri dan dilanjutkan dengan pencawanan

pada medium TSA. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni *Bacillus* galur B12 yang tumbuh setelah diinkubasi selama 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh selanjutnya dikonversikan ke dalam satuan cfu mL⁻¹ dengan rumus:

$$\text{Populasi bakteri} = \frac{x}{p \times v^2}, \text{ dengan}$$

x , jumlah koloni yang tumbuh pada cawan; p , faktor pengenceran; v , volume suspensi yang disebar pada cawan.

Penyiapan aktinomiset dilakukan dengan menggoreskan kultur murni ke medium WYE atau YCED dan diinkubasi selama 8–10 hari. Spora akan tumbuh pada permukaan medium yang ditumbuhi koloni aktinomiset dengan penampakan kasar seperti beludru.

Penyiapan Formula Spora *Bacillus* Galur B12 dan Aktinomiset pada Bahan Pembawa Tepung

Spora *Bacillus* galur B12 dipanen dengan sentrifugasi menggunakan tabung plastik konikal pada 7500 rpm pada suhu ruang selama 6 menit dari medium kultur Dickinson yang telah berumur 7 hari. Pelet yang diperoleh dicuci 2 kali dengan larutan *phosphate buffer saline* (PBS) 0.05M pH 7.0. Spora bakteri yang telah dicuci diresuspensi kembali pada larutan PBS kemudian kepadatan spora bakteri pada suspensi tersebut dihitung dengan teknik pengenceran berseri.

Spora aktinomiset dipanen dari kultur aktinomiset yang telah berumur 10 hari pada cawan petri berisi medium padat. Sebanyak 10 mL aquades steril dituang pada cawan tersebut, kemudian dengan spatula steril koloni aktinomiset digores dengan lembut hingga sporanya lepas dari permukaan agar-agar dan tersuspensi pada aquades steril. Setelah itu, suspensi spora tersebut diteteskan pada cawan kultur lain dengan menggunakan pipet. Penghitungan terhadap kepadatan spora dilakukan dengan alat haemasitometer.

Setelah dipanen, spora diinokulasikan pada bahan pembawa. Setiap bahan pembawa berukuran 50 mesh. Bahan pembawa dalam penelitian ini adalah campuran tepung arang sekam, dedak halus, tepung jagung, dan

tepung cangkang udang dengan perbandingan 86.5:3:10:0.5. Bahan pembawa yang sudah dicampur kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas untuk disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit.

Formula dibuat dengan cara menyebarkan suspensi spora bakteri dan aktinomiset secara merata pada bahan pembawa, masing-masing 5 mL untuk setiap 10 g bahan pembawa. Selanjutnya, campuran tersebut diaduk secara merata. Kepadatan spora *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset yang diinokulasikan ialah 10⁸ cfu g⁻¹ bahan pembawa. Formula ini selanjutnya diletakkan pada kertas aluminium steril dan dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 2 jam.

Aplikasi Formula Agens Hayati pada Benih Padi

Uji dilakukan menggunakan benih padi varietas Ciherang yang telah dianalisis menggunakan teknik pencawanan dengan pengenceran berseri untuk mengetahui infestasi awal *X. oryzae* pv. *oryzae*. Sebanyak 20 benih dipilih dan disterilkan permukaannya, lalu digerus serta disuspensikan pada 10 mL larutan PBS. Suspensi tersebut diencerkan hingga 10⁻⁸ kali dan disebar pada cawan berisi medium YDCA. Medium diinkubasi selama 2 hari dan *X. oryzae* pv. *oryzae* yang tumbuh sebagai koloni mukoid dan berwarna kuning dengan permukaan licin dihitung (Schaad *et al.* 2000).

Medium tanam yang digunakan berupa nampan plastik yang berisi *cocopeat* steril. Sebelum diberi perlakuan dan ditumbuhkan pada medium semai, benih padi direndam dalam tabung erlenmeyer steril berisi air steril selama 1 malam. Sebanyak 100 benih padi disebar pada formula bakteri yang diletakkan di atas aluminium steril dan dicampurkan secara merata hingga seluruh benih tertutupi formula bakteri. Tahap ini dinamakan pelapisan benih.

Uji Formula Agens Hayati terhadap Penekanan Populasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Analisis populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dilakukan pada bibit tanaman padi yang

berumur 7 HST. Sebanyak 20 dari 100 sampel bibit pada setiap ulangan dari setiap perlakuan digerus kemudian disuspensikan pada 50 mL air steril. Pencawanan *X. oryzae* pv. *oryzae* dilakukan pada medium YDCA. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni *X. oryzae* pv. *oryzae* yang tumbuh setelah diinkubasi selama 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh selanjutnya dikonversikan ke dalam satuan cfu mL⁻¹ dengan rumus:

$$\text{Populasi bakteri} = \frac{x}{p \times v^2}, \text{ dengan}$$

x , jumlah koloni yang tumbuh pada cawan (cfu); p , faktor pengenceran; v , volume suspensi yang disebar pada cawan (mL).

Uji formula agens hayati *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset terhadap penekanan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan (Tabel 1). Peubah yang diamati ialah jumlah koloni *X. oryzae* pv. *oryzae* yang tumbuh berdasarkan hasil pengenceran berseri dan pencawanan pada medium YDCA. Uji dilakukan dengan 3 ulangan. Pada setiap ulangan diambil 20 unit sampel yang dipilih secara acak yang akan dijadikan sebagai sumber pengamatan.

Uji Formula Agens Hayati terhadap Pertumbuhan Bibit Padi

Uji formula agens hayati *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset terhadap pertumbuhan tanaman disusun dalam rancangan acak lengkap dengan 8 perlakuan (Tabel 1). Peubah yang diamati ialah kemunculan bibit padi dan tinggi tajuk dari bibit yang tumbuh. Uji dilakukan dengan 3 ulangan. Pada setiap ulangan diambil 20 unit sampel yang dipilih

secara acak yang dijadikan sebagai sumber pengamatan.

Analisis Statistik

Data uji formulasi *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset terhadap penekanan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* dan pertumbuhan tajuk pada bibit padi diolah menggunakan analisis sidik ragam (ANOVA) dengan program SAS dan uji beda nyata dilakukan pada taraf 5%.

HASIL

Isolat *Bacillus* Galur B12 dan Aktinomiset

Pada medium agar-agar padat, *Bacillus* spp. berbentuk tidak beraturan dengan pinggiran bergerigi dan berwarna putih pucat kecokelatan. Koloni aktinomiset memiliki ciri khas berupa penampakan yang terlihat berdebu atau bertekstur seperti beludru. Penampakan tersebut merupakan spora yang dihasilkan oleh hifa aerial yang hanya dimiliki oleh aktinomiset. Hal ini berbeda dengan bakteri yang memiliki koloni mukoid ataupun permukaan licin yang khas.

Berdasarkan perbedaan fenotipe yang diamati, diperoleh 16 isolat aktinomiset dengan ciri fenotipe yang berbeda. Perbedaan ini meliputi penampakan koloni yang terbentuk pada medium agar-agar, warna koloni, serta pertumbuhan isolat tersebut dalam menghasilkan spora. Isolat aktinomiset yang tumbuh pada medium WYE ialah APS 1, APS 8, APS 9, APS 10, APS 12, APS 13, dan APS 16; sedangkan isolat yang tumbuh pada medium YCED ialah APS 2, APS 3, APS 4, APS 5, APS 6, APS 7, APS 11, APS 14, dan APS 16.

Tabel 1 Perlakuan terhadap benih padi pada pengujian formulasi spora *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset

Perlakuan	Keterangan
Kontrol	Tanpa perlakuan
B12	Formulasi <i>Bacillus</i> galur B12
APS 7	Formulasi aktinomiset isolat APS 7
APS 9	Formulasi aktinomiset isolat APS 9
APS 12	Formulasi aktinomiset isolat APS 12
B12 + APS 7	Formulasi campuran <i>Bacillus</i> galur B12 dan aktinomiset isolat APS 7
B12 + APS 9	Formulasi campuran <i>Bacillus</i> galur B12 dan aktinomiset isolat APS 9
B12 + APS 12	Formulasi campuran <i>Bacillus</i> galur B12 dan aktinomiset isolat APS 12

Seleksi Aktinomiset sebagai Agens Hayati

Isolat aktinomiset yang diperoleh kemudian diseleksi berdasarkan daya antagonismenya terhadap bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae*. Terdapat 16 isolat aktinomiset yang berhasil diisolasi dan hanya 4 isolat yang memiliki daya hambat terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae*, yaitu isolat APS 4, APS 7, APS 9, dan APS 12 (Tabel 2). Kemampuan daya hambat yang dimiliki aktinomiset diketahui dengan terbentuknya zona hambatan pada medium biakan cawan.

Kompatibilitas antara *Bacillus* Galur B12 dan Aktinomiset

Uji menggunakan metode biakan ganda menunjukkan bahwa satu-satunya isolat aktinomiset yang menunjukkan aktivitas antagonisme terhadap *Bacillus* galur B12 ialah isolat APS 4 (Tabel 3). Sebanyak 3 isolat

Tabel 2 Pembentukan zona hambatan oleh aktinomiset terhadap koloni *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada medium *tryptone soy agar*

Isolat aktinomiset	Pembentukan zona bening
APS 1	-
APS 2	-
APS 3	-
APS 4	+
APS 5	-
APS 6	-
APS 7	+
APS 8	-
APS 9	+
APS 10	-
APS 11	-
APS 12	+
APS 13	-
APS 14	-
APS 15	-
APS 16	-

+, terbentuk zona bening; -, tidak terbentuk zona bening

Tabel 3 Pembentukan zona hambatan oleh aktinomiset terhadap koloni *Bacillus* galur B12 pada medium *tryptone soy agar*

Isolat aktinomiset	Pembentukan zona hambatan	Kompatibilitas terhadap <i>Bacillus</i> galur B12
APS 4	+	Tidak kompatibel
APS 7	-	Kompatibel
APS 9	-	Kompatibel
APS 12	-	Kompatibel

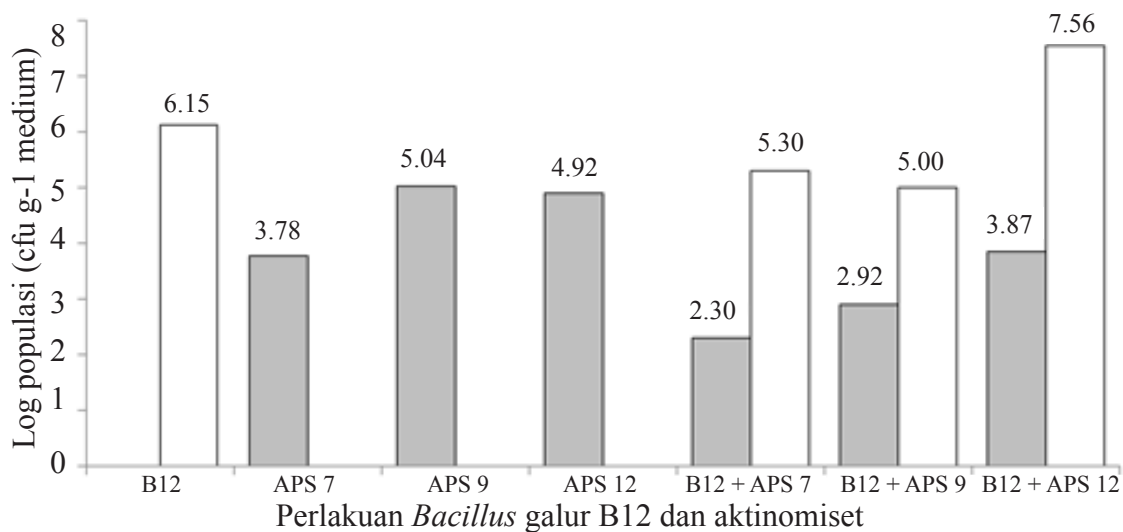
+, terbentuk zona bening; -, tidak terbentuk zona bening

aktinomiset yang kompatibel terhadap *Bacillus* galur B12, ialah isolat aktinomiset APS 7, APS 9, dan APS 12. Uji lanjut dilakukan dengan menumbuhkan masing-masing isolat aktinomiset bersama *Bacillus* galur B12 pada medium tanah dan pupuk kandang steril dengan masa inkubasi 3 minggu.

Berdasarkan penghitungan jumlah populasi bakteri diketahui bahwa terdapat perbedaan jumlah populasi antara bakteri yang ditumbuhkan secara tunggal dan bakteri yang ditumbuhkan secara bersamaan. Jumlah populasi *Bacillus* galur B12 maupun aktinomiset lebih rendah saat keduanya ditumbuhkan secara bersamaan dibandingkan dengan bila ditumbuhkan secara tunggal. Jumlah populasi *Bacillus* galur B12 yang ditumbuhkan bersamaan dengan APS 7 dan APS 9 lebih rendah daripada secara tunggal. Hal yang sama terjadi juga pada aktinomiset. Jumlah populasi APS 7, APS 9, dan APS 12 yang ditumbuhkan bersama dengan *Bacillus* galur B12 lebih rendah daripada yang ditumbuhkan secara tunggal (Gambar 1). Penurunan populasi yang terjadi dapat disebabkan oleh terjadinya kompetisi nutrisi serta ruang hidup sehingga pertumbuhan dan perkembangan bakteri ini lebih terbatas. Kompetisi ini tidak bersifat antagonis karena bakteri masih dapat tumbuh sehingga hubungan antara *Bacillus* spp. dan aktinomiset ini dapat dikatakan kompatibel. Populasi *Bacillus* galur B12 ketika ditumbuhkan bersama APS 12 mengalami peningkatan berbeda dengan dua isolat aktinomiset yang lain.

Penekanan Populasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pertumbuhan Bibit Padi

Populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* yang terbawa benih padi sebelum diberi perlakuan bakteri



Gambar 1 Populasi *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset (APS 7, APS 9, dan APS 12) pada medium campuran tanah dan pupuk kandang steril (setelah 3 minggu periode inkubasi) pada berbagai perlakuan. ■, aktinomiset; □, *Bacillus* galur B12.

ialah 2.7×10^4 cfu g⁻¹ benih padi. Perlakuan *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset pada benih padi berpengaruh terhadap populasi bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* pada bibit padi (Tabel 4). Semua perlakuan bakteri dapat menekan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* pada bibit dibandingkan dengan benih yang tidak diberi perlakuan (kontrol). Perlakuan aktinomiset isolat APS 9 dapat menekan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* sebesar 88.89%. Hal ini menunjukkan adanya sifat antagonisme yang dimiliki oleh aktinomiset terhadap bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae* yang terdapat pada bibit padi.

Adanya aktivitas mikrob pada benih padi menimbulkan keragaman dalam pertumbuhan bibit padi pada usia semai (Tabel 5). Perlakuan kombinasi *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset isolat APS 7 (B12 + APS7) merupakan perlakuan dengan hasil paling maksimal di antara perlakuan lain. Pada 4, 5, 6, dan 7 HST sebanyak berturut-turut 20.67, 42.33, 64.67, dan 83.33% benih padi telah berkecambah. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas mikrob yang dapat memacu proses perkecambahan padi.

Perlakuan bakteri pada benih juga mengakibatkan perbedaan nyata pada tinggi tajuk bibit padi (Tabel 6). Tinggi tajuk dari benih yang tidak diberi perlakuan (kontrol) ialah 7.64 cm, sedangkan benih yang diberi

perlakuan aktinomiset isolat APS 9 memiliki tinggi tajuk paling maksimal, yaitu 10.40 cm.

PEMBAHASAN

Bacillus merupakan bakteri gram positif yang dapat membentuk endospora yang berbentuk oval di bagian sentral sel. Endospora tersebut memungkinkan bakteri bertahan hidup pada suhu dan kondisi lingkungan yang ekstrem (Dan *et al.* 2012). Kemampuan bakteri ini mengkolonisasi bagian rizosfer tanaman menyebabkan potensinya sangat tinggi untuk berinteraksi dengan tanaman dan berperan sebagai agens hayati dan agens pemacu pertumbuhan tanaman. Pembentukan siderofor merupakan salah satu aktivitas *Bacillus* sebagai agens hayati sekaligus agens pemacu pertumbuhan seperti dilaporkan oleh Dan *et al.* (2012) untuk *B. licheniformis* 9555. Chakraborty *et al.* (2006) juga melaporkan pada *B. megaterium* dan *B. cereus* UW85 (Husen 2003).

Aktinomiset ialah kelompok besar dari bakteri berfilamen, umumnya bersifat gram positif dan mampu menghasilkan eksospora dari ujung-ujung miselium yang terbentuk. Beberapa aktinomiset diketahui merupakan organisme endofit dan dapat diisolasi dari tanaman. *Streptomyces* sp. merupakan

Tabel 4 Populasi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pada bibit padi berumur 7 hari setelah tanam setelah perlakuan *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset

Perlakuan	Populasi <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> ($\times 10^5$ cfu g ⁻¹ bibit)
Kontrol	108.00 a
<i>Bacillus</i> B12	45.33 c
Aktinomiset APS 7	91.00 b
Aktinomiset APS 9	12.00 d
Aktinomiset APS 12	23.33 d
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 7	53.00 c
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 9	16.00 d
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 12	48.00 c

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan pada α 5%

Tabel 5 Pengaruh perlakuan formulasi pada benih padi terhadap kemunculan bibit padi

Perlakuan	Kemunculan bibit padi (%)*			
	4 HST	5 HST	6 HST	7 HST
Kontrol	6.67 b	23.67 bc	40.00 bc	56.67 c
<i>Bacillus</i> B12	6.33 b	16.67 c	30.67 c	56.33 c
Aktinomiset APS 7	20.67 a	35.33 ab	44.33 abc	73.33 abc
Aktinomiset APS 9	12.67 ab	29.33 abc	58.33 ab	79.00 ab
Aktinomiset APS 12	7.67 b	15.67 c	35.67 bc	63.00 bc
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 7	20.67 a	42.33 a	64.67 a	83.33 a
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 9	7.67 b	17.33 c	30.33 c	57.00 c
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 12	16.00 bc	27.00 bc	46.33 abc	77.00 bc

*Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan pada α 5% HST, hari setelah tanam

Tabel 6 Rata-rata tinggi tajuk bibit padi berumur 7 hari setelah tanam setelah perlakuan *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset

Perlakuan	Tinggi tajuk (cm)
Kontrol	7.64 e
<i>Bacillus</i> B12	9.09 cd
Aktinomiset APS 7	9.89 abc
Aktinomiset APS 9	10.40 a
Aktinomiset APS 12	8.66 d
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 7	8.80 d
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 9	9.21 bcd
<i>Bacillus</i> B12 + aktinomiset APS 12	10.07 ab

Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji selang berganda Duncan pada α 5%

anggota aktinomisetes yang penting karena kemampuannya menghasilkan antibiotik dan salah satunya aktif menghambat pertumbuhan cendawan patogen pada tumbuhan. Aktinomisetes dilaporkan dapat mengendalikan beberapa patogen penting, seperti *Rhizoctonia solani* (Sabaratnam dan Traquair 2001) dan *Pythium ultimum* (Crawford *et al.* 1993). Nakaew *et al.* (2009) melaporkan aktinomiset *Spirillospora albida* menunjukkan aktivitas antimikrob terhadap *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, dan *Paenibacillus larvae*.

Kombinasi aktinomiset dan *Bacillus* galur B12 dapat meningkatkan aktivitasnya apabila bersifat kompatibel. Aktinomiset tergolong bakteri yang aktif dalam mendegradasi bahan-bahan organik, seperti lignoselulosa, kitin, dan pati dalam tanah (Igarashi *et al.* 2005). Kemampuan aktinomiset dan *Bacillus* mendegradasi senyawa kompleks menjadi senyawa sederhana akan mempengaruhi kompatibilitas keduanya. Pada pengujian menggunakan medium tanah dan pupuk kandang, aktinomiset isolat APS 12 dan *Bacillus* galur B12 menunjukkan sifat

kompatibel. Isolat APS 12 kemungkinan merupakan aktinomiset yang memiliki kemampuan mendegradasi pati yang tinggi sehingga menyediakan amilum dalam jumlah besar. Amilum merupakan senyawa turunan dari pati yang mampu dimanfaatkan oleh *Bacillus* galur B12 sebagai sumber nutrisi.

Bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* merupakan bakteri gram negatif yang tidak dapat membentuk spora dalam siklus hidupnya. Bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae* yang terbawa benih padi terdapat pada bagian bawah glume dan terkadang berada pada endosperma. Keberadaan bakteri pada benih dapat mengganggu proses metabolisme dari benih, diantaranya menghambat proses perkecambahan benih (Singh dan Mathur 2004). Benih padi yang tidak diberi perlakuan aktinomiset atau *Bacillus* galur B12 memiliki tingkat kemunculan bibit yang paling rendah. Pemberian *Bacillus* galur B12 maupun aktinomiset mengakibatkan terhambatnya perkembangan *X. oryzae* pv. *oryzae* sehingga tingkat kemunculan bibit kembali tinggi.

Perbedaan pertumbuhan kecambah padi pada berbagai perlakuan berkaitan dengan aktivitas hormon pertumbuhan yang dihasilkan oleh *Bacillus* galur B12 dan aktinomiset. Igarashi *et al.* (2005) melaporkan bahwa *Streptomyces hygroscopicus* S-17, salah satu anggota aktinomiset, mampu memacu pertumbuhan tomat dua kali lebih tinggi dan delapan kali lebih besar dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Aktinomiset diketahui memproduksi toyocamicin, hormon mirip sitokinin, yang dapat memacu pertumbuhan kalus dan asam pteridat, hormon mirip auksin, yang dapat memacu perkembangan akar. Bakteri *Bacillus* galur B12 mampu memacu pertumbuhan tanaman karena diketahui dapat membantu tanaman menghasilkan hormon pertumbuhan seperti asam indoleasetat, asam giberelat, sitokinin, dan etilena pada tanaman (Husen 2003). Dalam jumlah yang sesuai, hormon-hormon tersebut dapat memacu pertumbuhan tanaman menjadi lebih baik.

Formulasi tepung yang mengandung *Bacillus* spp. dan aktinomiset berpotensi untuk digunakan dalam pengendalian penyakit

hawar daun bakteri padi yang disebabkan *X. oryzae* pv. *oryzae*. Dari beberapa isolat aktinomiset yang diperoleh, terdapat 3 isolat yang memiliki sifat antagonis terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* dan kompatibel terhadap *Bacillus* spp., yaitu APS 7, APS 9, dan APS 12. Kombinasi *Bacillus* galur B12 dan APS7 pada benih padi mengakibatkan penekanan populasi *X. oryzae* pv. *oryzae* pada bibit padi dan peningkatan pertumbuhan bibit padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Chakraborty U, Chakraborty B, Basnet M. 2006. Plant growth promotion and induction of resistance in *Camellia sinensis* by *Bacillus megaterium*. J Basic Microbiol. 46:186–195. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/jobm.200510050>.
- Crawford DL, James ML, John MW, Margaret AO. 1993. Isolation and characterization of Actinomycetes antagonist of a fungal root pathogen. Appl Environ Microbiol. 11:3899–3905.
- Dan VM, Mishra S, Chaudhry V, Tripathi S, Singh P, Yadav S, Mishra S, Ijnu TP, George V, Varma A, Nautiyal CS. 2012. Biocontrol, plant growth promotion and conferring stress tolerance: multifaceted role of *Bacillus licheniformis* 9555. Internat J Sci Nat. 3(4):780–783.
- Husen E. 2003. Screening of soil bacteria for plantgrowth promotion activities in vitro. Indon J Agric Sci. 4:27–31.
- Igarashi Y, Miura S, Azumi M, Furumai T, Yoshida R. 2005. Studies on plant-associated Actinomycetes and their secondary metabolites. J Biosci Biotechnol Biochem. 21:1427–1441.
- Nakaew N, Wasu P, Saisamorn L. 2009. First record of the isolation, identification and biological activity of a new strain of *Spirillospora albida* from Thai cave soil. Actinomycetologica. 23:1–7. DOI: <http://dx.doi.org/10.3209/saj.SAJ230102>.
- Sabaratnam S, Traquair JA. 2001. Formulation of a Streptomyces biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplant. J Biol Control. 23:245–

253. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/bcon.2001.1014>.
- Schaad NW, Jones JB, Chun W. 2000. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Minnesota (US): APS Press.
- Singh D, Mathur SB. 2004. Histopathology of Seed Borne Infection. Florida (US): CRC Press. DOI: <http://dx.doi.org/10.1201/9781420038170>.